

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月8日現在

機関番号：32651

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2012

課題番号：22650159

研究課題名（和文） 旅行者血栓症リスク評価と、血栓予防機内食としての「納豆」提供の効果に関する研究

研究課題名（英文） Risk assessment of a pulmonary thromboembolism(PTE) and the preventive effect of PTE by Natto.

研究代表者

豊島 裕子 (TOSHIMA HIROKO)

東京慈恵会医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70328342

研究成果の概要（和文）：

動脈硬化性疾患の増加に伴い、血管内皮状態変化に伴う血管内血栓形成からさまざまな形での血栓症が増加している。動脈内での血栓形成に伴う心筋梗塞・脳梗塞はもとより、旅行者血栓症・入院患者における深部静脈血栓症など、静脈内での血栓形成およびその塞栓による致死疾患も増加している。我々は、これら疾患のリスク評価法の開発と、生活習慣改善によるこれら疾患の予防に関して研究した。

研究成果の概要（英文）：

Since arteriosclerotic diseases increased, various changes have occurred in the adult's vascular-endothelium condition. Since the state of the endothelium changed, an intravascular thrombus becomes is easy to be formed. For this reason, the incidence rate of a thrombosis is becoming high. If a thrombus is made in an artery, the symptoms of a myocardial infarction or a cerebral infarction will be shown. A thrombus is made in a deep vein, a traveler thrombosis and a long time recumbency person's deep venous thrombosis will be caused. These venous thromboses are also increasing. We developed the risk appraisal method of a thrombosis. Moreover, it inquired about prevention of these troubles by life-habit restitution.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	500,000	0	500,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,800,000	690,000	3,490,000

研究分野：統合生理学、疫学

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：環境衛生学、血栓止血学、

## 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで、職業性ストレスに伴う心筋梗塞・脳梗塞など致死的な血栓性疾患の発症機序・予防に関して、科研費（基盤研究B；平成18-20年度；課題18300226）の補助を受けて研究した。その結果、ごく軽度のストレス負荷でも、健常人において微小血栓が形成されることを報告した。

また研究開始時、深部静脈血栓症として旅行者血栓症、長期臥床患者における肺塞栓症などがすでに注目され、その対応策なども一般的となっていた。我々が本研究を計画した時期に、相次いで大規模地震・台風などの自然災害が発生し、避難所あるいは一時的に避難所とした乗用車内での心筋梗塞・深部静脈血栓症の発症などが多数報道された。日頃から生活習慣として血栓傾向の予防が重要であること、また健康診断レベルで個体の血栓形成性を把握しておく必要性などを強く実感し、本研究を開始することにした。

## 2. 研究の目的

### (1) 血栓症リスク評価法の開発

Virchowは血管内血栓形成に必要な因子として ①血管壁の性状変化 ②血液成分の変化 ③血流の変化を挙げている (Virchow's triad)。

① 血管壁の性状変化：急性冠症候群における冠動脈造影、脳梗塞における脳血管撮影、MRAなど放射線学的検査が既に確立していて、血管閉塞の程度、血管壁の性状などの検査結果が、治療に活かされている。

② 血液成分変化による血栓性評価：血小板凝集が、血栓形成の引き金になることは周知であるが、これまで臨床応用されていた血小板凝集能検査法は感度が低いため、血小板凝集能低下の評価は十分に行えなかったが、わずかな凝集能亢進を評価することは困難であった。われわれは、感度の極めて高いレーザー散乱

光粒子計測法による血小板凝集能測定法を用いて、ストレス負荷直後の血小板凝集能亢進の個体差から、血栓症リスクを評価したいと考えた。

③ 血流の変化：全血流動性評価システムMC-FANを用いて、血栓形成の引き金となる血流低下を評価する。これまでMC-FANは、模擬血管内を流れる全血の流速低下を動画としてみることで非定量的に血流低下評価に応用されてきた。動画で評価できインパクトのある検査法ではあるが、定量的でなく、治療効果の判定などには全く応用されてこなかった。私たちは、本法による血流評価に面積法と時間法を導入し、数学的指標で客観的に血流を測定できるようにしたいと考えた。

また、in vivoでの血栓性の指標となる血流検査の開発を模索したいと考えた。

### (2) 血栓傾向を予防する生活習慣の検討

民間療法として納豆など粘りのある食品は、血流を促進すると言われている（「血液サラサラ効果」などと言われている）。しかし、納豆にはビタミンKが含まれ、医療の場ではむしろ血液凝固系を亢進させるものと認識されている。そこで、納豆の血小板凝集能に対する効果を、納豆精製産物であるNKCPを用いて検討したいと考えた。

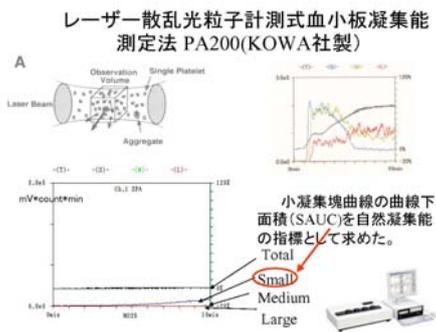
## 3. 研究の方法

(1) 対象：ヘルシンキ宣言、臨床研究に関する倫理指針（厚労省）、疫学研究に関する倫理指針（文科省、厚労省）に則った説明を行い、同意を得た若年健常男性24人（22.3±2.1歳）中年健常男性12人（45.2±3.0歳）。本研究は、慈恵医大倫理委員会の了承を得て行った。

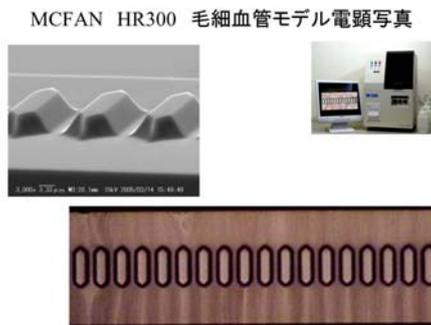
(2) 方法

① 血小板凝集能；3.13%クエン酸ナトリウム

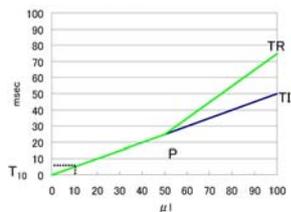
10%添加静脈血より作成した多血小板血漿 (PRP)を用い、KOWA 社製 レーザー散乱粒子計測式血小板凝集能測定装置 PA-200 を用い、大中小の凝集塊別に、散乱光強度を 10 分間継続的に記録した。大中小凝集塊それぞれの散乱光強度曲線とそれらの総和の全散乱光強度曲線の、peak 値 (SMAX、MMAX、LMAX、TMAX) と曲線下面積 (SAUC、MAUC、LAUC、TAUC) を測定した (図)。



②全血流動性評価；ヘパリン加採血した全血を MC 研究所製 MC-FAN の模擬血管に注入し、



閉塞度の算出



初めの 10 μl が TI 秒で流れた場合、予定終了時間は TR である。実測流動時間 TR、変曲点 P とすると、 $\Delta P \cdot TI \cdot TR$  が流動阻害分で、この面積を閉塞度とする。

流速、流出終了時間を測定し、図に従い閉塞

度を算出した。

(3) 実験プロトコル：血小板凝集能は、惹起剤無添加自然凝集能 (SPA)、ストレス関連物質であるアドレナリン (AD) 0.1M 惹起 (低濃度 AD 惹起) 凝集能、それぞれに納豆抽出物 NKCP 3 μM 添加時の凝集能を測定した。NKCP 添加濃度は、先行実験で低濃度 AD 惹起に相当する濃度の検討を行い決定した。

血小板凝集能測定値は、対数変換することで正規分布に従うことが分かったので、以下結果は対数表示する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 血小板凝集能

① SPA は、中年群で  $4.3 \pm 0.3$  と若年群の  $4.0 \pm 0.3$  に比して高い傾向を認めた。加齢に伴い血小板凝集能が亢進し、健康人でも血栓ができやすくなることが分かった。

しかし、中年群の PRP に NKCP を添加して血小板凝集能を測定すると、SPA は  $4.0 \pm 0.4$  と若年群と同等まで低下した。納豆抽出物 NKCP は、中高年の加齢により亢進した血小板凝集能を若年程度まで低下させることが可能であることが示唆された。

② ストレス関連物質アドレナリンによる血小板凝集惹起では、中年群は  $4.7 \pm 0.3$  と、若年群の  $4.8 \pm 0.3$  に比してやや反応が低い傾向を認めた。中高年では、ストレスに対する感受性が低下していることが疑われた。

③ さらに、アドレナリンによる血小板凝集惹起は、中高齢者において、NKCP 添加で  $4.6 \pm 0.3$  と、より一層低下することが分かった。中高年血小板に対して、納豆抽出物 NKCP は血小板のストレス抵抗性を与えることが示唆された。

##### (2) 全血流動性

MC 変曲点、MC 閉塞率は NKCP 添加で  $5.3 \pm 3.1$  ( $5.4 \pm 2.7$ )、 $155.4 \pm 150.3$  ( $160.2 \pm 131.5$ ) (カッコ内は NKCP 添加しないとき) と、NKCP 添加で有意な差を認めなかった。

今回の結果から、納豆抽出物の血流に対する直接的効果は確認できなかった。今後、更に検討を続けたいと考えている。

(3) 以上より、今回の研究から、血栓症 risk 評価法としてレーザー散乱光法粒子計測法による血小板凝集能測定は有用であると考えられた。しかし、全血流動性の risk 評価法としての位置づけは確認できなかった。

今後、更に検討を加え全血流動性の臨床意義を証明していきたいと考えている。

研究開始時、ヒト血栓症 risk の in vivo 評価法も検討したいと考えていたが、研究環境を十分に整えることができず、3 年間の研究期間ないに、結果を出すことができなかった。こちらも、今後更に研究を続けたいと考えている。

(4) 以上より中年群では NKCP 投与で、若年群に比して高い血小板凝集能が若年群並に抑制され、ストレス状態の血小板凝集能に類似させたアドレナリン惹起凝集も抑制されることがわかった。納豆抽出物 NKCP は血栓症 risk の高くなる中年健常群で、血小板凝集能を抑制し、血栓症の一次予防さらに二次予防において有用であることが示唆された。

従って、日常生活における納豆摂取は、民間療法で言われているように血液サラサラ効果があるのかもしれない。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- 1) Toshima H., Influence of mental stress

and exercise on platelet aggregation., *The Journal of physiological sciences.*, 有, 61, 2011, 152

[学会発表] (計 5 件)

- 1) Toshima H., Tanaka K, Risk of Stroke in Smokers., Asia Pacific Stroke Conference 2012. 2012. 9. 11, TOKYO.
- 2) 豊島裕子, 喫煙直後の血栓形成性亢進, 第 36 回日本脳卒中学会総会, 2011 年 7 月 31 日, 京都
- 3) 豊島裕子, 抗血小板・脳梗塞予防物質としての NKCP の効果, 第 52 回日本神経学会学術大会, 2011 年 5 月 18 日, 名古屋
- 4) 豊島裕子, 納豆抽出物 NKCP が中高齢者の血小板凝集能に及ぼす影響, 第 108 回日本内科学会講演会, 2011 年 4 月 17 日, 東京
- 5) Toshima H., Influence of mental stress and exercise on platelet aggregation., 88th annual meeting of the physiological society of Japan., 2011.3. 28(震災による学会中止のため誌上発表), Tokyo

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

豊島 裕子 (TOSHIMA HIROKO)  
東京慈恵会医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 70328342

##### (2) 研究分担者

木村 直史 (KIMURA NAOFUMI)  
東京慈恵会医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 80138742

遠藤 陽一 (ENDO YOICHI)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 20158786